

Aus der Hautklinik der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.
Direktor: Professor Dr. K.W. Kalkoff

**METHODIK DER THROMBOCYTENZÄH-
LUNG UND ALLERGENDIAGNOSTIK.**

Inaugural – Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Renate Jester
aus Gumbinnen/Ostpr.

1964

Aus der Hautklinik der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

Direktor: Professor Dr. K.W. Kalkoff

M e t h o d i k d e r T h r o m b o c y t e n z ä h -
l u n g u n d A l l e r g e n d i a g n o s t i k .

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

z u r

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
einer

H o h e n M e d i z i n i s c h e n F a k u l t ä t

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Renate Jester

aus Gumbinnen/Ostpr.

1964

Dekan: Professor Dr. H. Holzer

Referent: Professor Dr. K.W. Kalkoff



Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543128_0016

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung und Problemstellung	1
Diskussion	14
Zusammenfassung	17
Graphische Darstellungen und Tabellen	18

Einleitung und Problemstellung

Zur Verifizierung der allergenen Natur einer ursächlich in Frage kommenden Substanz wird empfohlen, die Zahl der Thrombocyten vor und nach Gabe der betreffenden Substanz zu verfolgen. Das Absinken der Thrombocytenzahl innerhalb von 2 Stunden um mehr als 15 % (STORCK, HOIGNÉ u. KOLLER 1952, 1955, SOENNICHSEN u. RANDOW 1962) bzw. 20% (KOROSSY u. GOZONY 1958, 1959, KOROSSY, VINCZE u. GOZONY 1962) des Ausgangswertes soll beweisen, daß es sich bei der zugeführten Substanz ggf. um das auslösende Allergen handelt (55, 41, 42, 27, 58, 59).

Welche der verschiedenen Methoden zur Thrombocytenzählung für diese Untersuchungen besonders zweckmäßig ist, wird nur unzureichend angegeben. Entscheidend für den Wert einer Methode für Verlaufszählungen ist die Reproduzierbarkeit der Einzelwerte die durch statistische Größen, den Korrelationskoeffizienten und das Quadrat der Streuung, die Varianz, charakterisiert werden kann.

Der Korrelationskoeffizient errechnet sich aus der Erst- und Zweitzählung. Ein signifikant größerer Koeffizient bedeutet bessere Reproduzierbarkeit. Ob sich die für die verschiedenen Zählverfahren errechneten Korrelationskoeffizienten signifikant unterscheiden, kann anhand der Formeln für den Vergleich zweier Korrelationskoeffizienten (s. GEIGY-Tabellen S. 170,11) bestimmt werden.

Die Varianz (oder deren Wurzel, die Streuung) wurde von einigen Autoren für verschiedene Zählmethoden in Absolutzahlen angegeben. Zur Beantwortung unserer Fragestellung genügen diese Angaben jedoch nicht. In Anlehnung an die bei der Allergendiagnostik üblichen Angaben muß die Varianz von der Differenz zwischen Erst- und Zweitwert in Prozent des Erstwertes (d%) errechnet werden. Gut reproduzierbar ist eine Zahl, wenn der Mittelwert nicht signifikant von 0 abweicht und die Varianz σ^2

bzw. die Streuung 0 möglichst klein ist. - Mittelwert und Varianz errechneten wir mit Hilfe der von H.-J. HEITE entworfenen und ausführlich erläuterten statistischen Rechenblätter (Lochkartenwerk Schlitz, Haensel u. Co. KG.). Bl. 2 gestattet aufgrund des Vergleiches zweier Durchschnitte bei paarweiser Anordnung der Meßwerte eine Stellungnahme zu der Frage, ob der Mittelwert ($\frac{\sum d}{x} \%$) signifikant von 0 abweicht. Bl. 3 gestattet den Vergleich zweier abhängiger Durchschnitte und gibt Antwort auf die Frage nach der signifikant kleineren Varianz. - Doch ist Voraussetzung für die Verwendung dieser statistischen Methode, daß die Werte x_1 und y_1 (in unserem Fall die zwischen Erst- und Zweitzählung auftretenden Differenzen in % vom Erstwert) ein und derselben normal verteilten Grundgesamtheit entstammen. Sie sind normal verteilt, wenn die kumulativen Häufigkeitsverteilungen (dargestellt im Wahrscheinlichkeitsnetz) eine annähernd gerade Summenlinie ergeben (s. auch Documenta Geigy, Wissenschaftl. Tabellen, Abschnitt Mathematische und Statistische Tabellen 1960, WEBER 1961). Daß dies der Fall ist, geht aus Abb. 1-9 hervor. Darüber hinaus sei bereits hier erwähnt, daß die Steilheit der Summenlinien einen guten Einblick in die Größe der Streuung gestattet. Je steiler die Summenlinie, um so kleiner und je flacher dieselbe, um so größer die Streuung.

Die bisherigen Beurteilungen verschiedener Zählverfahren beruhen meist auf "Erfahrung", weniger auf einer mathematisch-statistischen Analyse gewonnener Zahlenwerte. Ggf. findet man die für unsere Fragestellung unzureichenden Angaben zum Mittelwert und der Streuung der Thrombocytenzahlen. Empfohlen werden Venenblut- oder Kapillarblut-Methoden, indirekte oder direkte Verfahren, Leukocyten oder Erythrocytenpipetten, 0,1 oder 0,05 mm tiefe Zählkammern, Ohr oder Finger als Entnahmestelle, silikonisierte oder nichtsilikonisierte Pipetten und unterschiedlichste hämolysierende Zähllösungen und Phasenkontrast- oder Hellfeld-Mikroskop. Einzelheiten hierzu sind in Tab. I zusammengestellt.

Auf die keineswegs einheitliche Durchführung der Zählverfahren in verschiedensten, auch größeren Laboratorien weisen unlängst STOBBE, ROSAM u. HOFER (1961) hin. Selbst die indirekten oder direkten Zählverfahren werden keineswegs einheitlich durchgeführt. In Publikationen fehlt verschiedentlich die Angabe des angewendeten Zählverfahrens.

Immerhin aber sollte eine bewährte ältere Methode erst dann durch eine neue ersetzt werden, wenn diese der alten erwiesenermaßen überlegen ist. Dies ist, wie obenausgeführt bei der Methode mit dem signifikant größeren Korrelationskoeffizienten zwischen Erst- und Zweitanzählung oder der signifikant kleineren Streuung der Thrombocytenzahl in % vom Ausgangswert der Fall. Im folgenden soll daher die Frage geklärt werden, welche der vorgeschlagenen Methoden die am besten reproduzierbaren Werte bei vertretbarem Zeit- und Materialaufwand liefert. Bekanntes sei jedem Abschnitt kurz vorangestellt, offene Fragen werden auf Grund eigener Untersuchungen geklärt.

Im einzelnen ergeben sich folgende Fragen:

1. Ist Venenblut oder Kapillarblut vorzuziehen?
2. Sind indirekte (z.B. nach Fonio) oder direkte Verfahren (Zählkammer-Methoden z.B. nach FEISSLY u. LUEDIN 1949, BRECHER u. CRONKITE 1950, DERLATH 1956, ENZ 1961 u.a.) zweckmäßiger?
3. Soll die Zählung in Leukocyten- oder Erythrocyten-Pipetten erfolgen?
4. Soll die Kammertiefe 0,1 oder 0,05 mm betragen?
5. Soll die Bestimmung am Ohr oder Finger vorgenommen werden?
6. Sind nichtsilikonisierte silikonisierten Pipetten überlegen?
7. Welche hämolysierende Lösung ist für Thrombocyten-Verlaufszählungen besonders geeignet?

- a) Cocain oder Novocain
 - b) Cocain oder Ammoniumoxalat
 - c) Cocain oder Natriumzitrat?
8. Leistet die Zählung mit dem Phasenkontrast-Mikroskop Besseres als mit dem Lichtmikroskop bei Zählung
- a) mit Cocain
 - b) mit Natriumzitrat?
9. Mittelwerte der Differenzen in % vom Thrombocyten-Erstwert und Streuung.
10. Mittelwerte, Streuung und Korrelations-Koeffizient der Thrombocytenzahlen.

Versuchsanordnung und Methodik

Zur Zählung verwendeten wir sog. eichfähige Erythrocyten- und Leukocyten-Pipetten und 0,1 und 0,05 mm tiefe Thoma-Zeiss-Zählkammern. Die Kapillaren der Pipetten wurden, wie angegeben, (FEISSLY 1949, AHLHORN 1955) mit der Zählösung (s. später) benetzt und ausgepustet. Einstich in die gereinigte (spirit.dil.) Haut mit der Impflanzette. Abtupfen des ersten Blutropfens mit trockenem Zellstoff, Aufziehen des spontan hervorquellenden Blutes (kein Quetschen!) bei der Ery- und Leukopipette bis 0,5. Nachziehen der Zählösung bis 101 bzw. 11.

Als Zählösungen dienten verschiedene, in Aqua dest. gelöste Substanzen: 1. die von FEISSLY u. LUEDIN (1949) empfohlene 3%ige Cocain-Chlorhydrat-0,2%ige NaCl-Lösung, 2. eine 2%ige Novocain-Lösung (DERLATH 1956), 3. 1%ige Ammonium-Oxalat (BRECHER u. CRONKITE 1950), 4. 3,8%ige Natrium-Zitrat-Lösung (ENZ 1961).

Die Cocain-Lösung wurde nach STOBBE, ROSAM u. HOFER meist nicht über 1 Woche gelagert und im Eisschrank in einer

dunklen Flasche aufbewahrt. Die Notwendigkeit dieser Maßnahme überprüfen wir nicht.

Die 2%ige Novocain-Lösung ist nach SOLLMANN (1957) bei einem $P_H < 5$ praktisch stabil. Bei $P_H 7$ und 20°C sind nach ungefähr 10 Tagen 10% hydrolysiert. Der P_H der 2%igen Lösung liegt bei Bestimmung mit Merck's Universalindikator-Papier P_H 1-10 etwa bei 5.

Die 3,8%ige Natrium-Zitrat-Lösung ist " in nichtangebrochenem Zustand und unter der Voraussetzung, daß das Behältnis auf dem Transportwege keinen Schaden (Sprünge oder Kapillarrisse) genommen hat, jahrelang haltbar... Unter der Voraussetzung der sterilen Entnahme erübrigt sich eine Aufbewahrung im Kühlschrank". +)

Die gefüllten Pipetten wurden nach STOBBE, ROSAM u. HOFER sofort 3 Min. (Schüttelapparat) und 1/2 Std. später (Hämolyszeit) erneut 3 Min. auf dem Schüttelapparat bewegt. Verwerfen der ersten Tropfen. Füllen der Zählkammer. Lagerung in der feuchten Kammer für mindestens 15 Min. Auszählen einer ganzen Kammer ($0,1 \text{ mm}^3$) mit dem Phasenkontrastmikroskop Zeiss (Okular 8, Objektiv PH 40, Vergrößerung 320). Lichtmikroskop 1:200 (Okular 8, Objektiv 25).

Beim Vergleich von 0,1 und 0,05 mm tiefer Kammer Auszählen der halben 0,1-Kammer. Versehentlich wurden jedoch nicht 0,05, sondern stets 0,06ml ausgezählt. Da dieser Fehler unsere Ergebnisse eindrucksmäßig kaum verfälscht, ist es nicht gerechtfertigt, die Werte zu verwerfen und die Untersuchungen am Menschen zu wiederholen.

Bei der Versuchsanordnung verfahren wir nach Abwägen verschiedener Gesichtspunkte methodisch nicht völlig einheitlich.

+) Für die freundliche Mitt. danken wir der

Firma Fresenius, Bad Homburg.

a) Vergleich der Cocain- mit der Novocain-Lösung (7a) .

Blutentnahme für je eine Cocain- und Novocain-Pipette aus gleicher Einstichstelle am Finger, Beschickung eines Kammerfeldes aus jeder Pipette. Auszählen, Neufüllung und Zählung (Zweitwert) im gleichen Feld zur Vermeidung von Kammerfehlern. Da im klinischen Routinebetrieb die Pipetten vor Auszählung verschiedentlich länger lagern, bestimmten wir den Zweitwert einmal sofort nach dem Erstwert und in einer weiteren Versuchsreihe 24 h später (s.Tab.2, Zeile 2 u. 3, Abb. 1, 5 und 6).

Bei der Alternative Leukocyten-oder Erythrocyten-Pipetten (Punkt 3) bestimmten wir die Werte ebenfalls aus je einer Pipette sofort hintereinander.

b) Bei Verlaufszählungen werden mehrere Pipetten verwendet.

Die Versuchsanordnung änderten wir daher bei den Alternativen Ohr : Finger, nichtsilikonisierte : silikonisierte Pipetten und Cocain : Ammonium-Oxalat etwas ab. Blutgewinnung durch einen Stich. Füllen von je 2 Pipetten. Zuordnung der Pipetten 1 - 4 zu den Kammerfeldern 1 - 4. Um durch Pipetten oder Kammern bedingte Fehler zu vermeiden, wurden bei der Hälfte der Untersuchungen die Erstwerte mit Pipette und Kammerfeld 1 bzw. 3 und die Zweitwerte mit 2 bzw. 4 vorgenommen. Bei den restlichen Bestimmungen Umkehr der Bedingungen: Erstzählung mit Pipette und Kammer 2 bzw. 4, Zweitzählung mit 1 bzw. 3.

c) Bei der Alternative Cocain : Natrium-Zitrat, Hellfeld : Dunkelfeld und 0,1 : 0,05 mm tiefe Kammer schalteten wir auch die zwischen den zu vergleichenden Methoden auftretenden Pipetten- oder Kammerfehler aus. Sämtliche Erst- und Zweitwerte wurden mit den Pipetten-Kammerkombinationen 1 - 2, 2 - 3, 3 - 4 und schließlich 4 - 1 bestimmt.

Ergebnisse:

In den Abb. 1 - 9 sind die Differenzen zwischen Erst- und Zweitwert in % vom Ausgangswert als kumulative Häufigkeitsverteilung im Wahrscheinlichkeitsnetz dargestellt. Die (nicht eingezeichneten) Summenlinien der Punktfolgen liegen jeweils auf einer Geraden d.h. die Werte sind annähernd normal verteilt. Da sich auch anhand des Zeichentestes (s. Geigy-Tabellen) kein signifikantes Abweichen von einer Normalverteilung feststellen läßt, sind die für die weiteren Ausführungen erforderlichen Voraussetzungen erfüllt.

ad 1) 1st Venenblut- oder Kapillarblut vorzuziehen?

Bei der Allergendiagnostik ist es üblich, Kapillarblutverfahren zu wählen. Denn wiederholte Venenblutentnahmen stellen eine größere psychische und zeitliche Belastung für Patient und Arzt dar. Wir schlossen uns dieser Auffassung an, ohne vergleichende Untersuchungen durchzuführen. - Die zum Entscheid o.a. Fragestellung wichtigen Angaben zur Streuung der Thrombocytenzahl in % vom Erstwert fehlen in der Literatur. Lediglich der Mittelwert und die Streuung der Thrombocytenzahlen werden von MEISTER (1941), BRECHER, SCHNEIDERMAN u. CRONKITE (1953) BURMEISTER (1955) und STOBBE, ROSAM u. HOFER (1961) angegeben. Doch genügen diese Angaben zur exakten Beantwortung o.a. Fragestellung nicht.

ad 2) Sind indirekte (z.B. FONIO) oder direkte Verfahren (Zählkammer-Methoden z.B. FEISSLY-LUEDIN 1949, BRECHER u. SCHNEIDERMAN 1950, DERLATH 1956, ENZ 1961) vorzuziehen?

Auch hier stoßen wir in Lehr- und Handbüchern, Laboratoriumsanleitungen oder Originalarbeiten auf mehr allgemein gehaltene Empfehlungen, ein oder das andere Verfahren zu benutzen (11, 21, 25, 47, 46, 5, 23, 66, 3, 16, 24, 30, 52, 49, 65, 9, 22, 48). Mittelwert und Streuung der

mit dem FONIO- und FEISSLY-LUEDIN-Verfahren gefundenen Thrombocytenzahlen geben NACHTIGALL (1956) und MUELLER-SEIFERT (1962) an. Bei Zählungen (unlängst z.B. STAIB, BERNARD u. STREICHER 1961, KORINTH 1962), die nicht direkt im Anschluß an die Blutentnahme möglich sind (NACHTIGALL 1956) und bei Verlaufszählungen (WEINREICH 1961, Folia haematologica) finden wir sie eingesetzt.

Da für unsere Frage verwertbare Vergleiche zwischen dem indirekten FONIO- und direkten Zählkammerverfahren fehlen, führten wir ergänzende Berechnungen durch. Hierzu boten sich die Werte der Doppelzählungen FONIO's (1912) an. Ein mathematisch-statistischer Vergleich mit unserem Material ist möglich. Verglichen mit den anderen, in Tab. 2, Spalte 17 mitgeteilten Werten ergibt sich, daß die aus den Differenzen in % vom Ausgangswert errechnete Varianz bei FONIO (nach Zeile 1:177,70) meist signifikant größer als bei den anderen Methoden ist. Nur gegenüber den mit Erythrocyten-Pipetten und Novocain durchgeführten Zählungen ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

Zusammenfassend: Die meisten in Tab.2 angeführten Zählkammerverfahren liefern besser reproduzierbare Resultate als das FONIO'sche indirekte Verfahren.

Auch arbeitsökonomische Gründe sprechen für direkte Verfahren. Sie sind rascher durchführbar. Die Cocain-Methode allerdings ist kostspieliger, eine Gefährdung des Personals ist möglich.

ad 3) Ist die Zählung in Leukocyten- oder Erythrocyten- Pipetten zweckmäßiger?

BRECHER, SCHNEIDERMAN u. CRONKITE (1953) und NACHTIGALL (1956) arbeiten mit der Erythrocyten-Pipette. Das Blut ließe sich leichter aufziehen und die Verdünnung von 1:100 gewährleiste eine bessere Verteilung der Thrombocyten.

Andere Autoren verwenden ohne nähere Begründung Leukocyten-Pipetten. Ggf. berufen sie sich auf den Erstbeschreiber FEISSELY u. LUEDIN (1949), deren Methode sie verwenden.

Oberflächlich betrachtet müssen sich mit Leukocyten- und Erythrocyten-Pipetten gleiche mittlere Absolutwerte ergeben. Die größere Verdünnung in der Ery-Pipette und die damit verbundene kleinere, in der Zählkammer befindliche Thrombocytenzahl läßt aber eine schlechtere Reproduzierbarkeit im Einzelfalle vermuten.

Eindrucksmäßig ergibt sich aus Tab. 2 (Zeile 4, Spalte 10 u. 11, Abb. 1) bei der Erythrocyten-Pipette ein höherliegender Durchschnitt der Absolutzahlen, der sich bei paarweiser Anordnung der Meßwerte (t-Test) statistisch aber nicht sichern läßt (tabuliertes t für $n = 49$ bei einer IW von $5\% = 2,0$; errechnetes $t = 0,42$).

Die von uns als Kriterium für die Reproduzierbarkeit verwendete Varianz der Prozente vom Ausgangswert (s. Tab. 2, Zeile 4, Spalte 17) ist, wie erwartet, bei den Leukocyten-Pipetten signifikant kleiner als bei der Erythrocyten-Pipette ($IW < 1\%$). Damit übereinstimmend ergibt sich für die Leuko-Pipetten ein, wenn auch nicht signifikanter, größerer Korrelationskoeffizient als bei den Erythrocyten-Pipetten.

Zusammengefaßt: Die Verwendung von Leukocyten-Pipetten ist bei Verlaufszählungen zweckmäßig.

d 4) Soll die Kammertiefe 0,1 oder 0,05 mm betragen?

Während bei routinemäßigen Thrombocytenzählungen die meisten Autoren von einer 0,1 mm tiefen Thoma-Zeiss'schen Zählkammer Gebrauch machen, schlagen STOBBE, ROSAM u. HOFER die Verwendung einer 0,05 mm tiefen Kammer vor. " Die Verwendung besonders dünner

Zählkammern mit einer Kammertiefe von 0,05 mm ist für das Phasenkontrastverfahren vorteilhaft, da die üblichen Zählkammeranfertigungen keinen rechten Kontrast geben. Die Auszählung selbst ist durch die deutliche Darstellung der Thrombocyten einfach und kann auch im gewöhnlichen Hellfeld-Mikroskop bei einiger Übung vorgenommen werden, falls kein Phasenkontrast-Mikroskop zur Verfügung steht".

Unsere Vergleiche von 0,1 mm (versehentlich 0,6 μ l ausgezählt) und 0,05 mm (0,5 μ l) tiefen Kammern sind in Tab. 2, Zeile 5 und Abb. 2 gegenübergestellt. Weder Varianzen noch Korrelationskoeffizienten weichen signifikant voneinander ab.

Zusammengefaßt: Die 0,05 mm tiefe Zählkammer bietet gegenüber der 0,1 mm tiefen Kammer keine Vorteile.

ad 5) Soll die Bestimmung am Ohr oder Finger vorgenommen werden?

STOBBE, ROSAM u. HOFER (1961) empfehlen ausdrücklich die "Kapillarblutentnahme am Finger (nicht am Ohr läppchen)". Unsere Befunde (Abb. 3) sprechen eindrucksmäßig dafür, daß das Ohr dem Finger als Entnahmestelle geringgradig überlegen ist. Die statistische Analyse ergibt am Ohr eine signifikant kleinere Varianz von d% als am Finger. Der Korrelationskoeffizient ist am Ohr eindrucksmäßig größer als am Finger (Tab. 2). Zudem bereitet die Entnahme am Ohr subjektiv weniger Beschwerden.

Zusammengefaßt: Das Ohr ist dem Finger als Entnahmestelle vorzuziehen.

ad 6) Sind nichtsilikonisierte silikonisierten Pipetten überlegen?

Weshalb silikonisierte Pipetten überlegen sind, wurde nur ein-drucksmäßig begründet. FEISLY (1961), der 1949 Silikonisierung empfiehlt, teilt uns mit, " es ist nicht unbedingt nötig, die Pipetten zu silikonisieren, da die Cocain-Lösung schon die Adhäsion der Plättchen verhütet."

Aus Abb. 4 und Tab. 2, Zeile 7 ergibt sich: Mittelwerte, Korrelationskoeffizienten und Varianzen weichen bei den silikonisierten und nichtsilikonisierten Pipetten nicht signifikant voneinander ab.

Zusammengefaßt: Silikonisierung ist mit keinem objektiv belegbaren Vorteil verbunden, sie erfordert höchstens Mehrarbeit. Nichtsilikonisierte Pipetten sind zweckmäßiger, +)

ad 7) Welche der vorgeschlagenen hämolysierenden Zählösungen ist Thrombocyten-Verlaufszählungen vorzuziehen?

a) Cocain oder Novocain?

Als einzige nehmen STOBBE, ROSAM u. HOFER (1961) Stellung: " Die Identifizierung der Thrombocyten und ihr Kontrast lassen kaum einen Unterschied gegenüber der Verwendung von Cocain-Lösung erkennen. Zudem ist die Cocain-Lösung" unwirtschaftlicher als Novocain.

Bei Lagerung in der feuchten Kammer seien mit Cocain genaue Zählungen bis zu 2 h (NACHTIGALL 1956), 3 h (AHLHORN 1955) bzw. 10 h (BURMEISTER u. HANSEN 1955) möglich. AHLHORN (1955) zählt die Werte bei 60 Pers. in je einer Ery-Pipette nach 20, 40 und 60 Min. Die Schwankungsbreite beträgt ca. 6000 Thrombocyten = 3% um den Mittelwert (bei 472 Einzelwerten 231.000 Thrombocyten/ μ l).

+) Silikonisierung nach HENNING (1959) mit Silikonöl, Aufziehen der Pipette bis 11. Einbrennen beim Aufrechtstehen und 150-200°C für 30 Min.

Unsere in Abb. 5 u. 6 und Tab. 2, Zeile 2 u. 3 dargestellten Werte ergeben gleiche Thrombocytenzahlen, ungeachtet, ob die Bestimmung mit Cocain oder Novocain erfolgte. Bei den sofort aufeinanderfolgenden Zählungen stimmen die Mittelwerte, die innerhalb von 24 h um etwa 4,7% signifikant abfallen, überein (Spalte 14 u. 16). Beide Male sind die Varianzen aus d% (Spalte 19) bei der Cocain-Methode mit einer IW von $\leq 0,1\%$ signifikant kleiner. Die Werte sind daher im Einzelfalle bei der Cocain-Methode besser reproduzierbar.

b) Cocain oder Ammoniumoxalat?

Ueber Cocain und Ammoniumoxalat sind uns keine Vergleichsuntersuchungen bekannt. Auch hier ergeben sich (Abb.7, Tab.2, Zeile 8) keine signifikant verschiedenen Mittelwerte. Bei der Cocain-Methode ist der Korrelations-Koeffizient größer und die Varianz aus d% mit einer IW $\leq 1\%$ kleiner. Die Cocain-Methode ist der Ammonium-Oxalat-Methode vorzuziehen.

c) Cocain oder Natriumziträt?

Von ENZ (1961) wird die Natrium-Ziträt-Methode mitgeteilt, aber keinem anderen Verfahren gegenübergestellt. Aus Abb.8 und Tab.2, Zeile 10, ergibt sich bei annähernd gleichen Mittelwerten noch kein signifikantes Abweichen des Korrelationskoeffizienten und der Varianzen von d%.

Doch liegt der errechnete F-Wert von 1,57 (40 Pers.) nahe an der Signifikanzschwelle von 1,72, die bei 60 Untersuchten 1,53 betrüge. Bei Vergrößerung des Untersuchungsmaterials könnte daher die Schwelle durchaus überschritten werden.

ad 8) Phasenkontrastmikroskop oder Hellfeld

Unter Verwendung von 3,8% Natriumzitrat sind Zählungen mit dem Phasenkontrast-Mikroskop und dem Hellfeld gleichwertig (Abb. 9, Tab.2, Zeile 9). Weder Mittelwert und Korrelationskoeffizient noch Varianzen aus d% unterscheiden sich signifikant. Doch ist das Zählen weniger ermüdend und das Bild deutlicher.

ad 9) Mittelwerte der Differenzen in % vom Thrombocyten-Ausgangswert und Streuung.

Aus Uebersichtsgründen sind in Abb.10 die bei den einzelnen Untersuchungen gewonnenen Mittelwerte der Differenzen in % vom Ausgangswert mit Streuungen graphisch dargestellt.

Unter Berücksichtigung unserer Befunde sollte die Thrombocytenzahl bei Verlaufszählungen am Ohr mit Cocain in nichtsilikonisier-
ten Leukocyten-Pipetten unter Verwendung des Phasenkontrast-
Mikroskopes durchgeführt werden.

ad 10) Mittelwerte, Streuung und Korrelationskoeffizient der Thrombocytenzahlen.

Literaturangaben zum "Mittelwert" und der "Streuung" der Thrombocytenzahlen stellen wir in Tab.3 zusammen. Unsere Mittelwerte und Streuungen (5) der Erstzählung und die Korrelations-Koeffizienten zwischen Erst- und Zweit-zählung sind für die einzelnen Methoden in Tab.2 zahlenmäßig und zur besseren Uebersicht in Abb. 11 graphisch dargestellt. Bei Zählung am Ohr mit Cocain, der Leuko-Pipette und dem Phasenkontrast-Mikroskop ergibt sich ein Mittelwert von 141.312 Thrombocyten/ μ l $\pm$ 42.995; Korrelations-Koeffizient 0,99.

Diskussion

Im Vorhergehenden konnte gezeigt werden, daß sich die Thrombocytenzahl - erfolgt die Bestimmung aus einer Entnahme - mit Cocain besser als mit Novocain reproduzieren läßt. Ist hiermit auch die Ueberlegenheit des Cocain an sich methodisch einwandfrei bewiesen, so tauchen doch Zweifel auf, ob diese Ueberlegenheit auch unter klinischen Bedingungen, die wir bei den anderen Methodenvergleichen zugrunde legten, gewährleistet ist. Wir überprüften daher die Verhältnisse erneut bei 40 Personen unter klinischen Bedingungen: Entnahme des Erstwertes aus dem einen und des Zweitwertes aus dem anderen Ohr. Um Seitendifferenzen, Pipetten und Kammerfehler auszuschließen, wurde jedes Ohr und jede Pipetten-Kammerkombination nach bestimmten Schema gleich häufig benutzt.

Beim Vergleich der Differenzen zwischen Erstwert- und Zweitwert in % vom Ausgangswert ergibt sich, wie erwartet, beim Cocain eine kleinere (88,67) und beim Novocain eine größere (103,05) Varianz. Der F-Wert von 1,16 erlaubt bei tabuliertem F von 1,71 aber keinesfalls das Urteil: signifikanter Unterschied. Ueberprüft man die Varianzen für die absoluten Differenzen, erhält man beim Cocain eine Varianz von 138.926.256 und Novocain von 241.788.301. Bei einem errechneten F von 1,74 und tabuliertem F von 1,71 bei $P = 0,05$ unterscheiden sich die Varianzen mit einer IW $< 5\%$ gerade signifikant. In gleichem Sinne sind die Korrelationskoeffizienten zu deuten, die beim Cocain mit 0,9138 höher als beim Novocain mit 0,7216 liegen. Doch ergibt sich auch hier keine Signifikanz.

Beurteilt an der Varianz der absoluten Differenzen ist die Cocain-Methode daher dem Novocain-Verfahren auch unter klinischen Bedingungen überlegen. - Als Mittelwerte der

Erstzählung ergaben sich für Cocain $128.655 \pm 26.530 \text{ Thr./}\mu\text{l}$ (Varianz: 703.950.769), für Novocain $142.155 \pm 25.630 \text{ Thr./}\mu\text{l}$ (Varianz: 656.895.359). Für sämtliche mit Cocain und Leukopipette am Ohr durchgeführte Zählungen ergeben sich unter Ein-schluß der Ausgangswerte von Tab. 2, Zeile 6 und 8 Thrombo-cytenzahlen von $134.662 \pm 33.714/\mu\text{l}$ Blut.

Nachdem die Cocain-Methode den anderen Methoden auch unter klinischen Bedingungen überlegen ist, kommen wir zur Problema-tik der Verlaufszählungen bei der Allergen-Diagnostik zurück.

Aufgrund unserer mit der Cocain-Methodik gewonnenen Befunde müssen wir bei der Zweit-zählung unter klinischen Bedingungen mit einer methodisch bedingten Streuung von $\sigma = \sqrt{88,67} \approx 9,5\%$ vom Thrombocyten-Erstwert rechnen.

Der als beweisend für die Allergenität einer Noxe betrachtete Throm-bocytensturz von 15% bedarf daher einer dem Einzelfall angepaßten kritischen Überprüfung. So ist ein Thrombocytensturz von über 9,5% in $\frac{100-68}{2} = 16\%$ der Fälle, von über 19% (2 σ) in $\frac{100-95}{2} = 2,5\%$ der Fälle und von über 28,5% (3 σ) in etwa $\frac{100-99,7}{2} = 0,15\%$ der Fälle der Fehlerbreite der Methodik zuzuschreiben; denn 68% der statistischen Masse liegen innerhalb der σ -Grenze, 95% liegen inner-halb der 2 σ -Grenze und schließlich 99,73% innerhalb der 3 σ -Grenze.

Immerhin aber darf selbst auf Grund eines Thrombocyten-Sturzes von über 19 oder 28,5% nur nach Durchführung von Kontrolluntersuchungen (Zufuhr der "Noxe" bei Nichtallergi-kern zur Ausschaltung eines obligat eintretenden Thrombocy-tensturzes) auf Allergen-Wirksamkeit der zugeführten Noxe geschlossen werden. Angaben über Kontrolluntersuchungen aber sind relativ spärlich. Man wird daher vorläufig der Verwendung eines Thrombocytensturzes von weniger als 20% zur Allergendiagnostik kritisch gegenüberstehen müssen.

Daß nach Allergenbelastung ein Thrombocytensturz eintritt, soll keinesfalls bezweifelt werden. Zahlreiche Versuche an Tieren (44, 31, 51, 14, 32)

und am Menschen (57, 35, 36, 41, 42, 27, 59, 58, 37, 4) sprechen dafür. Die den Thrombocytensturz als Methode für die Allergendiagnostik pessemistisch beurteilenden Stimmen (14, 43, 29, 13, 49) bezweifeln auch weniger das Zustandekommen eines Thrombocytensturzes an sich. Sie weisen vielmehr darauf hin, daß ein deutlicher Thrombocytensturz nur bei zum Schock führenden Dosen eintritt, was aber nichts anderes als eine gewisse Dosisabhängigkeit der Intensität des Thrombocytensturzes bedeutet. Der bei ausreichender Dosis eintretende Abfall ist daher im Kollektiv zwar nachweisbar, im Einzelfall aber oft zu niedrig, um beweisend zu sein. Anders ausgedrückt: Die Bestimmungsmethode ist noch so grob, daß sich Fehlerbreite der Methode und Höhe des zu erwartenden Thrombocytensturzes unerwünscht stark überlappen und ein ausreichend sicheres Urteil im Einzelfall nicht häufig genug möglich ist. Doch werden auch diese Vermutungen bisher nur ungenügend mit Zahlenmaterial belegt. Zahlreiche Untersuchungen an Kontrollpersonen und Allergikern sind deshalb zur exakten Analyse der Verhältnisse erforderlich.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

Die mit verschiedenen Zählverfahren ermittelten Werte von 690 Thrombocyten-Doppelzählungen werden anhand von mathematischen Kriterien (Korrelations-Koeffizient, Varianzen) miteinander verglichen, um ein Urteil über die Brauchbarkeit der verschiedenen Methoden zur Verifizierung der allergenen Natur von Substanzen auf Grund des Thrombocytensturzes zu gewinnen.

Die Ergebnisse waren folgendermaßen:

1. Aufgrund der aus Erst- und Zweitzählung errechneten Korrelationskoeffizienten kann eine Ueberlegenheit einer der geprüften Methoden nicht abgeleitet werden, da sie sich nicht signifikant unterscheiden.
2. Bei den aus den Differenzen zwischen Erst- und Zweitwert in Prozent vom Erstwert errechneten Varianzen ergeben sich dagegen signifikante Unterschiede.
3. Die signifikante kleinste Varianz ergibt sich bei Blutentnahme aus dem Ohr und Gebrauch von nicht-silikonisierten Leukocyten-Pipetten und 3%igem Cocain in 0,2%iger NaCl-Lösung sowie bei Verwendung einer 0,1 mm tiefen Thoma-Zeiss-Zählkammer und eines Phasenkontrast-Mikroskops. Für Verlaufszählungen sollte diese Methode deshalb bevorzugt werden.

Mit dieser Methode, die Durchschnittswerte von 135.000 ± 34.000 Thrombocyten/ μ l Blut ergab, dürfte ein Thrombocytensturz von über 19% notwendig sein, um die allergene Natur der getesteten Substanz zu sichern. Der Befund sollte aber durch Kontrollen abgesichert werden, da die bisher durchgeführten Untersuchungen über den allergenbedingten Thrombocytensturz methodisch, zahlenmäßig und im Hinblick auf Kontrolluntersuchungen bisher nicht ausreichend sind, um verbindliche Zahlenangaben machen zu können.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Aggeler, P.M., Howard, J. a. S.P. Lucie,
Platelet counts and function.
Blood 1, 472 (1946)
- 2) Ahlhorn, J.,
Studien zur direkten phasenoptischen Thrombocytenzählung.
Z. klin. Med. 153, 154-160 (1955)
- 3) Begemann, H. u. H.G. Harwerth,
Praktische Hämatologie. Differentialdiagnose,
Therapie, Methodik.
2. Aufl., 234, Stuttgart, Georg Thieme 1961
- 4) Berquist, G.,
Thrombocytopenie nach Injektion aktuellen Pollenextrakts
bei Pollenallergikern.
Allergie u. Asthma 2, 250 (1963)
- 5) Boros, J. u. B.v.,
Lehrbuch der klinischen Hämatologie.
1. Aufl., 27 u. 151, München, Werk Verlag Dr. E. Bonaschowski 1960
- 6) Brecher, G. a. E.P. Cronkite,
Morphology and enumeration of human blood platelets.
J. applied. Physiol. 3, 365-77 (1950)
- 7) Brecher, G., Schneiderman, M. a. E.P. Cronkite,
The reproducibility and constancy of the platelet count.
Amer. J. Clin. Path. 23, 15-26 (1950)
- 8) Burmeister, W. u. H.G. Hansen,
Zur direkten Bestimmung der Thrombocytenkonzentration des
Blutes mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskopes.
Klin. Wschr. 33, 894-896 (1955)
- 9) Cartwright, G.E.,
Diagnostic laboratory hematology.
3rd Edition, 77, New York-London, Grune & Stratton 1963
- 10) Dameshek, W.,
A method for the simultaneous enumeration of blood
platelets and reticulocytes.
Arch. intern. Med. 50, 579 (1932)

- 11) Degkwitz, R.,
Methodik der Blutplättchenuntersuchung.
Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden
Abtlg.IV, Teil 3, 393-408, Urban & Schwarzenberg 1923
- 12) Derlath, S.,
Die direkte phasenoptische Thrombocyten- und Retikulocyten-
zählung.
Aerztl. Forschg. 10, 552-555 (1956)
- 13) Dieckhoff, J. u. C.M.Arndts,
Zur Pathogenese der Kälteurtikaria.
Allergie u. Asthma 5, 131 (1959)
- 14) Eagle, H., Johnston, C.G. a. I.S.Ravdin,
On prolonged coagulation time subsequent to anaphylatic shock.
John, Hopk. Hosp. Bull. 60, 428 (1937)
- 15) Enz, M.,
Ueber eine einfache Methode der Thrombocytenzählung.
Rö.-u.Lab.-Praxis 14, Heft 8 (1961)
- 16) Feissly, R.,
Phase Microscopy and Enumeration of Blood Platelets.
Henry Ford Hosp. Symp.: Blood Platelets
Little, Brown & Co. (inc.) (1961)
- 17) Feissly, R. et H. Lüdin,
Microscopie par contrastes des phases.
(Application à l'hématologie)
Rev. d'Hématol. 4, 481 (1949)
- 18) Fischer, W. u. W.D.Germer,
Ueber eine einfache Methode der direkten phasenoptischen
Thrombocytenzählung.
Rö.-u. Lab.-Praxis 10, 49-52 (1957)
- 19) Flößner, O.,
Beobachtung und Zählung von Blutplättchen.
Z. Biol. 77, 113 (1922)
zit. bei Meister
- 20) Fonio, A.,
Ueber ein neues Verfahren der Blutplättchenzählung.
Z. Chir. 117, 176 (1912)
- 21) Gerloff, F.,
Vergleichende Betrachtung über die Thrombocyten-
zählmethoden von Fonio und Jürgens.
Dtsch. med. Wschr. 61, 1557 (1935)

- 22) Gitter, A. u. L. Heilmeyer,
Taschenbuch der klinischen Funktionsprüfung.
8.Aufl., 212, Stuttgart, Gustav Fischer 1963
- 23) Hallmann, L.,
Klinische Chemie und Mikroskopie.
8.Aufl., Stuttgart, Georg Thieme 1960
- 24) Heilmeyer, L.,
Lehrbuch der inneren Medizin.
2.Aufl., 387, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer 1961
- 25) Heilmeyer, L. u. H. Begemann,
Handbuch der inneren Medizin.
4.Aufl., Bd. II, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer 1951
- 26) Henning, N.,
Klinische Laboratoriumsdiagnostik.
1.Aufl., 161, München, Urban & Schwarzenberg 1959
- 27) Johansson, S.-A., Lundberg, A. a. H.-E.Sjöberg,
Influence of heparin on Thrombocytopenia in Allergic Reactions
Acta med Scand. 168. 165 (1960)
- 28) Jürgens, R.
Eine Mikromethode zur Thrombocytenzählung.
Klin.Wschr. I, 97 (1934)
zit. bei Meister (1941)
- 29) Kallos, P. u. L.Kallo-Deffner,
Allergie und Antibiotika.
Antibiotica et Chemotherapia, Fortschr. 3, 145 (1956)
- 30) Keller, W. u. A.Wiskott,
Lehrbuch der Kinderheilkunde.
1.Aufl., 641, Stuttgart, Georg Thieme 1961
- 31) Klecki, C. et C.Pelczar,
Role des Plaquettes dans le Choc Anaphylatique.
J. physiol. path. gen. 24, 285 (1926)
zit. bei Kopeloff u. Kopeloff (1941)
- 32) Kopeloff, L.M. a. N. Kopeloff,
Anaphylaxis in rhesus monkey; horse serum as antigen.
J. Immunol. 36, 83 (1936)
zit. bei Kopeloff u. Kopeloff
- 33) Kopeloff, L.M. a. N. Kopeloff,
Blood platelets in anaphylaxis.
J. Immunol. 40, 471-481 (1941)

- 34) Korinth, E.,
Untersuchungen über die quantitativen, morphologischen und funktionellen Veränderungen der Thrombocyten bei chronischen Lebererkrankungen.
Acta hepato-splen. 2, 65-73 (1962)
- 35) Korossy, S. u. M. Gozony,
Erfahrungen mit durch Staphylokokkus-Anatoxin ausgelöstem Thrombocytopenie-Test bei kokkogenen Ekzemen.
Acta allergol. 12, 68-74 (1958)
- 36) Korossy, S. u. M. Gozony,
Untersuchungen mit Staphylokokkus-Anatoxin an kokkogenen ekzematösen Kranken.
Acta allergol. 13, 286-294 (1959)
- 37) Korossy, S., Vincze, E. u. M. Gozony,
Durch Chloramphenicol (Chlorocid-) -Behandlung verursachte Allergodermatosen.
Allergie u. Asthma 8, 228-232 (1962)
- 38) Meister, E.,
Ueber die Zählung der Thrombocyten.
Z. exper. Med. 108, 742-756 (1941)
- 39) Müller-Seifert,
Taschenbuch der Medizinischen klinischen Diagnostik.
68. Aufl., München, Verlag J.F.v.Bergmann 1962
- 40) Nachtigall, C.,
Vergleichende Thrombocytenzählung.
Aerztl. Wschr. 11, 76 (1956)
- 41) Nilzén, A.,
The thrombocyte index after injection of staphylococcus vaccine and tuberculine in man.
Acta dermat.-vener. (Stockholm) 38, 112-122 (1958)
- 42) Nilzén, A.,
Arzneimittelallergie.
Akt. Probl. Derm. 1, 290-300 Karger, Basel/New York 1959
- 43) Osgood, E.E.,
Drug induced hypoplastic anemias and related syndromes.
Ann. int. Med. 39, 1173 (1953)
zit. bei Korossy u. Gozony (1958)
- 44) Pesci, E.,
Recherches sur la theorie de l'anaphylaxie.
Ann. de l'Inst. Pasteur 35, 315 (1921)
zit. bei Kopeloff u. Kopeloff (1941)

- 45) Preiß, W.,
Ueber die physiologische Zahl und Morphologie
der Blutplättchen.
Z. exper. Med. 84, 810 (1932)
zit. bei Meister (1941)
- 46) Schilling, V.,
Praktische Blutlehre.
16.Aufl., 97, Stuttgart, Gustav Fischer 1959
- 47) Schulten, H.,
Lehrbuch der klinischen Hämatologie.
5.Aufl., 68, Stuttgart, Georg Thieme 1953
- 48) Schulten, H.,
H.Dennig's Lehrbuch der inneren Medizin.
6.Aufl., 333, Stuttgart, Georg Thieme 1964
- 49) Sönnichsen, N. u. U. Randow
Der sogenannte thrombopenische Index und seine
Bedeutung in der Allergie-Diagnostik.
Allergie u. Asthma 8, 87-95 (1962)
- 50) Sollmann, T.,
Local Anesthetics.
A Manuel of Pharmacology, 8.Aufl., 1957
- 51) Squier, T.L. a.F.W. Madison,
Thrombocytopenic purpura due to food allergy.
J. Allergy 8, 143, (1937)
zit. bei Johansson Lundberg a. Sjöberg (1960)
- 52) Stahl, R.,
Diagnostische Technik in J. Kottmaiers Taschenbuch
der praktischen Medizin.
5.Aufl., 1019, Stuttgart, Georg Thieme 1961
- 53) Staib, I., Bernard, M. u. H.J. Streicher,
Ueber die Abhängigkeit des Kaliumspiegels im Serum
von der Thrombocytenzahl.
Der Chirurg 32, 453-455 (1961)
- 54) Stobbe, H., Rosam, W. u. E. Hofer,
Zur Methodik der Thrombocytenzählung und über die
"Normalwerte" der Thrombocyten im Blut.
Dtsch. Ges.wesen 16, 1520-1524 (1961)
- 55) Storck, H. Bigliardi P., Brenn, H. u. R. Hoigné,
Ueber die Bedeutung der Thrombocyten bei allergischen Vorgängen.
Schweiz. med. Wschr. 83, 692-697 (1953)

- 56) Storck, H., Hoigné, R. u. F. Koller
Thrombocytenabfall als Hilfsmittel zur Allergendiagnose.
I. Congr. Internat. d'Allergie 739-744 (1952)
- 57) Storck, H., Hoigné, R. u. F. Koller,
Thrombocytes in Allergic Reactions.
Int. Arch. Allergy 6, 372-384 (1955)
- 58) Stoyanow, S., Konstantinov, A. Ivanov, I. u.A. Grozdanov,
Studies on dermohypodermatitis.
Vestn. Derm. Vener. 35, 21-25 (1961)
- 59) Stoyanow, S., Noeff, K. Grozdanov, A. u. N. Doitschinowa,
Der thrombopenische Index und immunhämatologische
Untersuchungen bei professionellen allergischen Hauterkrankungen.
Allergie u. Asthma 6, 71 (1960)
- 60) Thomsen-Gram, H.C.,
On the platelet count and bleeding time in diseases of the blood.
Arch. Int. Med. 25, 325 (1920)
zit. bei Meister (1941)
- 61) Tocantins, L.M.,
Arterial, venous and cutaneous blood platelet counts
in men and dogs under normal and abnormal conditions.
Amer. J. med. Sci. 192, 150 (1936)
- 62) Tocantins, L.M.,
The mammalian blood platelet in health and disease.
Medicine (Baltimore) 17, 155 (1938)
- 63) Vilarino, u. J.V.Pimentel,
Ueber Thrombocytenzählungen
Klin.Wschr. II, 1255 (1939)
zit. bei Meister (1941)
- 64) Weinreich, J.,
Das postoperative Verhalten der Thrombocytenzahl nach
Splenektomie und seine möglichen Ursachen.
Fol. hämatol. 5, 3-4 (1961)
- 65) Wintrobe, M.M.,
Clinical Hematology
5th Edition, 281, Philadelphia, Lea & Febiger 1962
- 66) Wolf, H.J.,
Einführung in die innere Medizin.
8.Aufl., 268, Stuttgart, Georg Thieme 1963
-

Entnahmestelle	Pipettenart	Blutverdünnung	Zähflüssigkeit	Hämolyse-dauer	Kammertiefe in mm	Lagerungsdauer in der feuchten Kammer	Ausgezähltes Kammer-volumen	Mikroskop	Vergroßerung	Autoren
-	Leuko-silikonisiert	1:20	3% Cocain (0,4% NaCl) Nachttrag: 0,2% NaCl	30 min	0,05	15 min. Nachttrag 10 min.	0,05 μ l	Phako	320	Feissly u. Lüdin (1949)
-	Leuko-	1:20	3% Cocain (0,4% NaCl) empfohlen: 0,2% NaCl	20-30 min.	0,1	10-15 min.	0,0312 μ l	Phako	500	Burmeister u. Hansen (1955)
Ohr	Ery- bzw. Leuko-	1:100 bzw. 1:20	3% Cocain (0,2% NaCl)	20 min.	0,1	15 min.	0,1 μ l	Phako	320	Ahlhorn (1955)
Fingerbeere	Ery-	1:100	3% Cocain (0,4% NaCl)	30 min.	0,1	15 min.	0,1 μ l	Phako	450	Nachtigall (1956)
Fingerbeere	Ery-silikonisiert	1:100	3% Cocain (0,1% NaCl)	20-30 min.	0,05	10 min.	0,05 μ l	Phako evtl. Hellfeld	280-300	Stobbe, Rosam u. Hofer (1961)
Fingerbeere	Ery-silikonisiert	1:100	1% Ammon. oxalat	-	0,1	10-15 min.	0,0625 μ l	Phako	430	Brecher u. Cronkite (1950)
										Brecher, Schneideman u. Cronkite (1953)
	Leuko-	1:20	2% Novocain	5 min.	0,1	3 min.	mehrmals 0,02 μ l	Phako	300	Derlath (1956)
Fingerbeere	Ery-	1:100	3,5% Novocain 0,25% NaCl	20 min.	0,1	15 min.	0,1 μ l	Phako	320	Fischer u. Germer (1957)
Fingerbeere	Ery-	1:200	3,8% Na-Citrat	gründl. Durchmischen	0,1	5 min	0,0625 μ l	Lichtmikroskop	-	Enz 1961

Tab. 1 Gegenüberstellung der Bedingungen verschiedener Thrombozytenzählungen.

Fragestellung	Ergebnis	Personenzahl	Entnahmestelle	Zählflüssigkeit	Pipetten	Kammertiefe ausgezähltes Kammer volumen	Mikroskop	Zählmodus	Ausgangswert x Mittelwert/ μ l $\pm$ 6
Sind die folgenden Methoden der Fonio-Methode vorzuziehen?	ja	30	Fingerbeere	Methode s. Fonio 1912					228.369 $\pm$ 59.477
Ist bei sofort und 24 h später erfolgter Zählung Cocain dem Novocain vorzuziehen?	ja	50	Fingerbeere	Cocain ----- Novocain	je eine Leuko-pipette	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und nach 24 h	129.165 $\pm$ 32.752 ----- 135.148 $\pm$ 34.315
Ist bei sofort und gleich anschließender Zählung Cocain dem Novocain vorzuziehen?	ja	50	Fingerbeere	Cocain ----- Novocain	je eine Leuko-pipette	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	136.752 $\pm$ 34.584 ----- 135.142 $\pm$ 33.809
Ist die Leukocytenpipette der Erythrocytenpipette vorzuziehen?	ja	50	Fingerbeere	Cocain	eine Leuko-pipette ----- eine Ery-pipette	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	136.752 $\pm$ 34.584 ----- 134.300 $\pm$ 42.510
Ist eine Zählkammer von 0,1 mm Tiefe einer von 0,05 mm vorzuziehen?	ja	40	Ohr	Cocain	je 2 nicht silikonisierte Ery-Pipetten	0,1 mm 0,06 μ l 0,05 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	163.833 $\pm$ 28.159 ----- 176.364 $\pm$ 29.462
Ist das Ohr dem Finger als Entnahmestelle überlegen?	ja	50	Ohr ----- Fingerbeere	Cocain	je 2 silikonisierte Leuko-pipetten	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	133.862 $\pm$ 29.341 ----- 134.596 $\pm$ 27.914
Sind nichtsilikonisierte Pipetten silikonisierten überlegen?	ja	50	Fingerbeere	Cocain	2 nicht silikonisierte Leuko-Pipett. ----- 2 silikonisierte	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	119.316 $\pm$ 39.779 ----- 116.346 $\pm$ 31.808
Ist bei sofort und gleich anschließender Zählung Cocain dem Ammon.oxalat vorzuziehen?	ja	40	Ohr	Cocain ----- Ammon.oxalat	je 2 nicht silikonisierte Leuko-pipetten	0,1 mm 0,1 μ l	Phasenkontrast	sofort und wenige Min. später	141.312 $\pm$ 42.995 ----- 134.972 $\pm$ 43.614
Ist die Zählung im Phasenkontrastmikroskop der Zählung im Hellfeld vorzuziehen?	ja	40	Ohr	Na-Citrat	je 2 nicht silikonisierte Ery-Pipetten	0,1 mm 0,06 μ l	Phasenkontrast Hellfeld	sofort und wenige Min. später	143.250 $\pm$ 23.684 ----- 141.000 $\pm$ 22.153
Ist bei sofortiger u. gleich anschließender Zählung die Cocain-Phako-der Na-Citrat-Hellfeld-Methode vorzuziehen?	ja	40	Ohr	Cocain ----- Na-Citrat	je 2 nicht silikonisierte Ery-pipetten	0,1 mm 0,06 μ l	Phasenkontrast Hellfeld	sofort und wenige Min. später	163.833 $\pm$ 28.159 ----- 141.000 $\pm$ 22.153

Tab. 2: Darstellung und Beantwortung der den einzelnen Versuchen zugrunde liegenden Thrombocytenzahl / μ l Blut. Zugrunde gelegt sind einmal die Mittel der Origin und des Korrelationskoeffizienten mit statistischer Sicherung vorhandener Unter % vom Ausgangswert, deren Streuungen (σ) einschl. statistischer Sicherung vorh

- 25 / 26 -									
Zweitwert y Mittel- wert/ul ± 6	Korr. Ko- effizient zwischen x u. y	Signi- fikanz von d% gegen n ₀	$\frac{x-y \cdot 100\%}{n}$ = d% = d ₁ %	errechne- ter T-Wert	Signi- fikanz von d% n gegen 0	Varianz von d%	errech- neter F- Wert	Signifi- kanz	Streuung von d%
240.773	0,89	s. Text	+ 3,0	0,1	n. sign.	177,70	2,10 gegen Wer- te vom Fin- ger mit si- likon. Leuko- pipette	< 5 %	13,3
122.550	0,94	n. sign.	- 4,7	4,1	< 0,1%	69,01	3,19	< 0,1 %	8,3
127.376	0,85		- 4,8	2,3	< 5%	220,05			14,8
134.166	0,97	n. sign.	- 1,9	0,7	n. sign.	36,95	3,07	< 0,1 %	6,1
132.172	0,90		- 1,4	0,9	n. sign.	113,50			10,7
134.166	0,97	n. sign.	- 1,9	0,7	n. sign.	36,95	2,07	< 1 %	6,1
153.368	0,94		- 0,1	0,8	n. sign.	76,46			8,7
165.167	0,82	n. sign.	+ 1,4	0,9	n. sign.	102,53	1,09	n. sign.	10,0
174.818	0,83		- 0,5	0,3	n. sign.	94,16			9,7
131.290	0,96	n. sign.	- 1,3	1,4	n. sign.	43,12	1,96	< 5%	6,6
136.272	0,94		+ 1,2	0,9	n. sign.	84,45			9,2
118.966	0,96	n. sign.	- 1,0	0,8	n. sign.	83,86	1,33	n. sign.	9,6
117.248	0,96		+ 1,4	1,3	n. sign.	63,16			7,6
139.548	0,99	n. sign.	- 1,1	1,6	n. sign.	22,68	2,35	< 1 %	4,8
154.860	0,97		- 0,03	0,0	n. sign.	53,334			7,3
145.417	0,68	n. sign.	+ 2,6	1,2	n. sign.	171,38	1,06	n. sign.	13,1
142.000	0,69		+ 1,6	0,8	n. sign.	161,19			12,7
165.167	0,82	n. sign.	+ 1,4	0,9	n. sign.	102,53	1,57	n. sign.	10,0
142.000	0,69		+ 1,6	0,8	n. sign.	161,19			12,7

alternativfragen aufgrund statischer Berechnungen des Zahlenmaterials.
 alwerte von Erst- und Zweitzahlung einschließlich der Streuungen (6)
 niede; zum anderen sind die mittleren Abweichungen der Zweitzahlen in
 dener Unterschiede errechnet.

Entnahme- stelle	Zähl- verfahren	- 27 - Mittel- wert	Streuung	Autor
venös	Brilliant- kresylblau	500.000 - 900.000	-	Dameshek (1932)
cutan	Formalin, Citrat	180.000 - 358.000	-	Tocantins (1936, 1938)
venös		150.000 690.000	-	
cutan	Fonio	302.000	-	Meister (1941)
venös	Vilarino	309.800	-	
cutan	Jürgens	449.700	-	
venös	Thomsen-Gram	446.500	-	
cutan	Flößner	646.800	-	
venös	Preiß	655.500	-	
cutan	Rees u. Ecker	273.000 - 545.000	-	Aggeler (1946)
cutan	Ammon.oxalat	247.000	± 24%	Brecher, Schnei- derman u. Cron- kite (1953)
venös		248.000	± 11%	
cutan	Fonio	192.000	± 105,4	Nachtigall (1956)
	Cocain	198.000	± 121,5	
cutan	Cocain	-	± 5%	Stoyanow et al. (1960)
cutan	Cocain	193.700	± 25.500	Stobbe, Rosam u. Hofer (1961)
venös		195.100		
cutan	Fonio	200.000 - 350.000	± 6%	Müller-Seifert (1962)
	Cocain	220.000	± 4%	
cutan	Cocain	240.000	± 89.230	Sönnichsen u. Randow (1962)

Tab. 3: Mittelwerte und absolute bzw. relative Streuungen
von Thrombozytenzahlen/ μ l Blut.

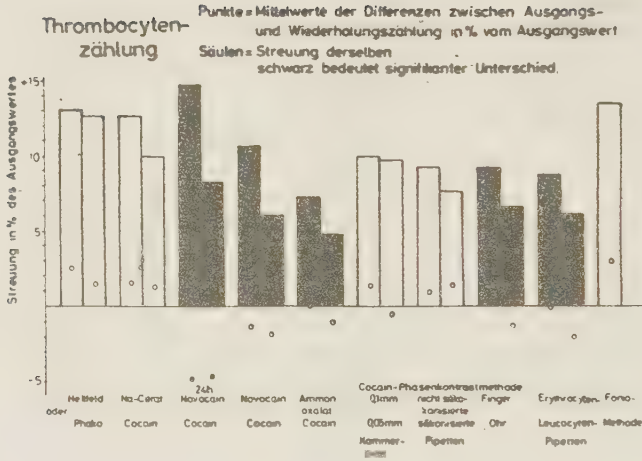


Abb. 10: Graphische Darstellung der in Tab. 2 angeführten Mittelwerte der Differenzen zwischen Ausgangswert und Wiederholungszählung in % vom Ausgangswert und deren Streuung. Signifikante Unterschiede sind durch Schwärzung der Punkte bzw. Säulen hervorgehoben. Die jeweiligen Alternativfragen sind unten angeführt.

Die Abhängigkeit der Thrombocytenzahl vom Zählverfahren.

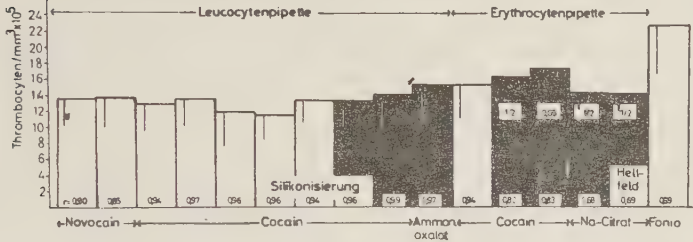


Abb. 11: Übersicht zur mittleren Thrombocytenzahl in Abhängigkeit vom Zählverfahren. Streuungen (σ) und Korrelations-Koeffizient (r) zwischen Erst- und Zweitählung sind angegeben. Die unterschiedlichen Zählbedingungen (Leuko- bzw. Erypipette, Novocain, Cocain, Ammoniumoxalat, Natriumcitrat, Fonio-Methode, Silikonisierung bzw. Helfeld) wurden angeführt. Der Finger als Entnahmestelle imponiert als weiße, das Ohr als schwarze Säule. Ausgezählt wurden jeweils in der 0,1 mm tiefen Zeiss-Thoma-Zählkammer sämtliche Quadrate. Wurde die Hälfte ausgezählt, Markierung durch 1/2. 0,05 bedeutet ganze 0,05 mm tiefe Kammer.

Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen in Abhängigkeit von der Pipette.

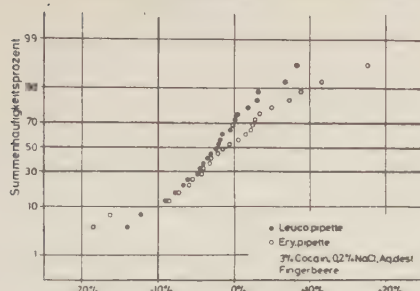


Abb. 1

Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen in Abhängigkeit von der Zählkammer.

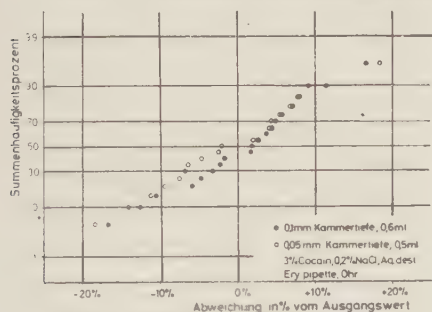


Abb. 2

Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen in Abhängigkeit vom Entnahmest.

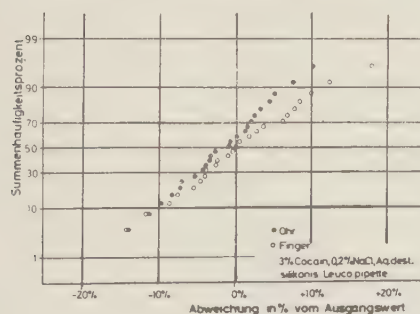


Abb. 3

Die Reproduzi-
zahlen in Abh

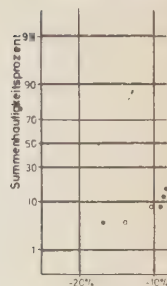


Abb. 4

Die Reproduzi-
zahlen in Abh

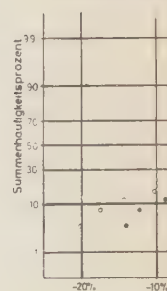


Abb. 5

Die Reproduzi-
zahlen r

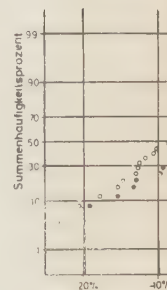
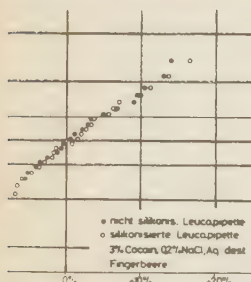


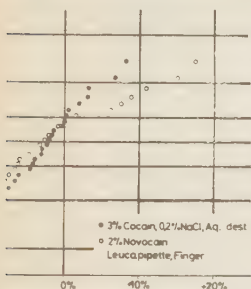
Abb. 6

Abb. 1-9: Abweichung der Thrombocytenzahl bei der Zweit- von der Erstzählung in Bei angenähert gerader Summenlinie sind die Werte normal verteilt. Anha die Einzelwerte am besten reproduzierbar sind. Steile Summenlinie bedeu Streuung um den Mittelwert). Gegenübergestellt sind: 1. Leuko- und Er 4. nichtsilikonisierte und silikonisierte Pipetten, 5. u. 6. Cocain und Nov 8. Cocain und Natriumcitrat, 9. Helffeld und Phasenkontrastmikroskop. - Leuko-Pipette, Cocain und Phasenkontrast-Mikroskop erhalten wurde, an der Zufallseinrede standhalten, wurde in Tab. 2, Spalte 17-20, anhand st

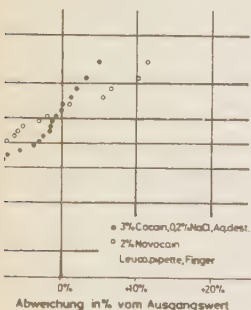
erbarkeit von Thrombocyten-
ingigkeit von der Pipette.



Abweichung in % vom Ausgangswert
erbarkeit von Thrombocyten-
ängigkeit von der Zählösung.



Abweichung in % vom Ausgangswert
erbarkeit von Thrombocyten-
ach 24 Stunden.



Abweichung in % vom Ausgangswert

Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen in Abhängigkeit von der Zählösung.

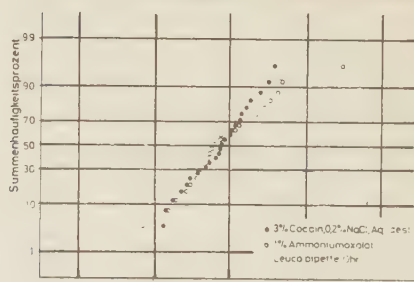


Abb. 7

Abweichung in % vom Ausgangswert
Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen in Abhängigkeit von der Zählösung.

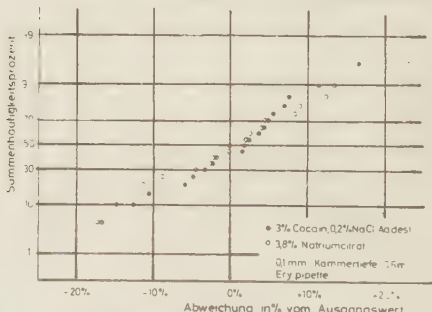


Abb. 8

Die Reproduzierbarkeit von Thrombocyten-
zahlen bei der Helfferd- und Phakomethode.

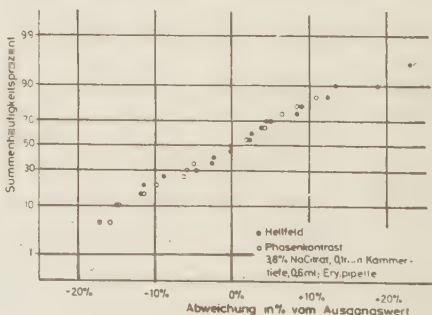


Abb. 9

% vom Erstwert, dargestellt als kumulative Häufigkeitsverteilung im Wahrscheinlichkeitsnetz. mäßig zu entscheiden, mit welcher Methode
tet bessere, flachere Summenlinie schlechtere Reproduzierbarkeit (= größere bzw. kleinere
y-Pipette, 2. 0,1 und 0,05 mm tiefe Kammern, 3. Ohr und Finger als Entnahmeort,
ocain bei sofort bzw. nach 24 h erfolgreicher Zweitählung, 7. Cocain u. Ammoniumoxalat,
Eindrucksmäßig ist die Folge der schwarzen Punkte in Abb. 7 die am Ohr mit der
steilsten, d.h. die Reproduzierbarkeit ist am besten. Inwieweit die eindrucksmäßigen Urteile
statistischer Maßzahlen geprüft.

L e b e n s l a u f .

Am 15.6.1937 wurde ich als Tochter des Facharztes für Chirurgie Dr. med. Dietrich Jester und seiner Frau Judith, geb. Rahmelow, in Gumbinnen/Ostpreußen geboren.

Im Herbst 1943 kam ich in Weißenfels/Saale auf die Volksschule. Aus Krankheitsgründen und wegen der Uebersiedlung nach Westdeutschland 1947 erhielt ich von 1946-1950 Privatunterricht. Ostern 1950 wurde ich in die Quinta der St. Ursula-Oberschule in Hannover aufgenommen, wo ich am 5.3.1958 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1958 begann ich in Tübingen das Medizinstudium, legte 1960 in Hamburg das Physikum ab und verbrachte die klinischen Semester an der Hamburger, Wiener und Freiburger Universität.

Am 15.6.1964 bestand ich in Freiburg das medizinische Staatsexamen.

Meine Medizinalassistentenzeit begann ich am 1.9.64 auf der II. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Moabit in Berlin.

Herrn Professor Dr. Kalkoff danke ich für die Ueberlassung des Themas.

Herrn Dr. Engelhardt bin ich für die großzügige wissenschaftliche Förderung und die stets hilfsbereite Unterstützung zu Dank verpflichtet.

